

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE
AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS

LEANDRO FABRÍCIO FIORI

Cascata trófica e respostas fisiológicas de *Astyanax* (Characiformes) quando ameaçados por piscívoros de diferentes estratégias de caça

Maringá
2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA
DE AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS

LEANDRO FABRÍCIO FIORI

Cascata trófica e respostas fisiológicas de *Astyanax* (Characiformes) quando ameaçados por piscívoros de diferentes estratégias de caça

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Área de concentração: Ciências Ambientais

Orientadora: Prof. ^a Dr. ^a Evanilde Benedito

Coorientador: Prof. Dr. David Joseph Hoeninghaus

Maringá
2016

"Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)"
(Biblioteca Setorial - UEM. Nupélia, Maringá, PR, Brasil)

F519c Fiori, Leandro Fabrício, 1988-
Cascata trófica e respostas fisiológicas de *Astyanax* (Characiformes) quando ameaçados por piscívoros de diferentes estratégias de caça / Leandro Fabrício Fiori. -- Maringá, 2016.
40 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais)-- Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Biologia, 2016.
Orientadora: Prof.ª Dr.ª Evanilde Bedito.
Coorientador: Prof. Dr. David Joseph Hoeinghaus.

1. *Astyanax* (Characiformes) - Relação predador presa - Planície de inundação - Alto rio Paraná. 2. Cascata trófica - Ambientes aquáticos de água doce. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

CDD 23. ed. -597.4815309816
NBR/CIP - 12899 AACR/2

LEANDRO FABRÍCIO FIORI

Cascata trófica e respostas fisiológicas de *Astyanax* (Characiformes) quando ameaçados por piscívoros de diferentes estratégias de caça

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof.^a Dr.^a Evanilde Benedito
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof.^a Dr.^a Claudia Bueno dos Reis Martinez
Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Prof. Dr. Roger Paulo Morrul
Universidade Estadual de Maringá (UEM)

Aprovada em: 18 de fevereiro de 2016.

Local de defesa: Anfiteatro Prof. “Keshiyu Nakatani”, Nupélia, Bloco G-90, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida.

Agradeço aos meus pais, Carlos H. Fiori e Marli A.B. Fiori, a meu irmão Rodrigo C. Fiori e a minha Avó Maria de Lourdes Fiori, por me proporcionarem todo suporte familiar e por sempre me apoiarem em minhas decisões. Obrigado por todo carinho, proteção e por todo amor que sempre pude encontrar em casa.

Agradeço imensamente à minha namorada, Gabrielli G. Manzatti, por sempre estar ao meu lado, fazendo-se presente em todos os momentos da minha vida, até mesmo a distância. Obrigado por sempre se interessar pelo meu trabalho, especialmente por ter me ajudado nos experimentos.

Agradeço à minha orientadora, prof. Dr^a. Evanilde Benedito, que contribuiu muito na minha formação acadêmica, desde que me acolheu no primeiro ano da graduação até a conclusão do Mestrado.

Agradeço aos colegas do laboratório de Ecologia Energética, que são muitos para lembrar-me de todos os nomes, os quais tive prazer de conviver durante esses sete anos. Mas especialmente agradeço ao Bruno Figueiredo e ao Lucas Lolis por participarem ativamente dos trabalhos desta dissertação.

Ao meu co-orientador David J. Hoeinghaus e aos colegas Cagney e Luke que me acolheram na *University of North Texas* durante o período de intercâmbio.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Continentais (PEA), ao Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura (Nupélia) pela estrutura e logística para o desenvolvimento deste trabalho. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos de mestrado, e ao Escritório de Cooperação Internacional (ECI-UEM) pela bolsa de intercâmbio.

Agradeço a todos os integrantes da banca por aceitarem avaliar esta dissertação.

Cascata trófica e respostas fisiológicas de *Astyanax* (Characiformes) quando ameaçados por piscívoros de diferentes estratégias de caça

RESUMO

A predação é uma importante interação moduladora de populações e comunidades aquáticas. Assumindo que as estratégias de caça de peixes piscívoros (senta-e-espera e perseguição ativa) acarretam diferentes comportamentos de antipredação para presas. Investigou-se como tais variações de comportamento afetam a sobrevivência de invertebrados aquáticos e a seletividade destes por peixes invertívoros, assim como possíveis alterações fisiológicas que podem ocorrer nos invertívoros ao confrontar-se com diferentes predados. Foi desenvolvido dois experimento em mesocosmo. O primeiro avalia a sobrevivência de dois tipos diferentes de invertebrados aquáticos (*Chironomus sancticaroli* – bentônico e *Daphnia magna* – zooplanctônico) numa cadeia composta pelo invertívoro *Astyanax altiparanae* e com os piscívoros *Hoplias* aff. *malabaricus* (senta-e-espera) e *Astronotus crassipinnis* (perseguição ativa), combinados em ambientes com e sem plantas aquáticas. O segundo experimento avalia as alterações fisiológicas (níveis plasmáticos de cortisol e glicose) de *Astyanax bimaculatus* em resposta a aos mesmos piscívoros, assim como o papel da condição de visibilidade subaquática nessa interação. Destaca-se que a proporção dos invertebrados consumidos foi dependente do tipo de estratégia de caça dos piscívoros. A presença de plantas aquáticas proporcionou maior sobrevivência de invertebrados aquáticos, exceto nos tratamentos com o piscívoro *A. crassipinnis*. Considerando as respostas fisiológicas dos peixes invertívoros, evidenciou-se que a presença dos piscívoros causou aumento nos níveis plasmáticos de cortisol em *A. bimaculatus*, entretanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos com piscívoros de diferentes estratégias de caça. Por outro lado, nenhuma alteração significativa foi observada quanto aos níveis plasmáticos de glicose, assim como nenhuma alteração metabólica foi constatada entre tratamentos de água clara e turbida. Conclui-se que as duas estratégias de caça de piscívoros afetam diferentemente a cadeia trófica, entretanto os níveis plasmáticos de cortisol de glicose do invertívoro, para ambos os piscívoros, são semelhantes e independem do comportamento de antipredação.

Palavras-chave: Ameaça de predação. Efeito *top-down*. Peixes de água doce. Pressão de predação.

Trophic cascade and physiological answers of *Astyanax* (Characiformes) when threatened by piscivores of different hunting modes

ABSTRACT

Predation is an important modulator interaction of populations and aquatic communities. Assuming that hunting modes of piscivores fish (sit-and-wait and active pursuit) result in different anti-predation behavior by prey. We aimed to investigate how behavior changes affect the survival of aquatic invertebrates and the selectivity of these fish for invertebrates, and possible physiological changes that can occur in invertebrates fish when confronted with different predators. To this end, we develop two experiments. The first evaluates the survival of two different types of aquatic invertebrates (*Chironomus sancticarloi* – benthic and *Daphnia magna* – planktonic) in a chain composed by invertebrate *Astyanax altiparanae* end with piscivores *Hoplias* aff. *malabaricus* (sit-and-wait) and *Astronotus crassipinnis* (active pursuit), combined in environments with and without aquatic plants. The second experiment evaluates the physiological changes (cortisol and glucose levels) of *Astyanax bimaculatus* in response to same piscivores, and the role of underwater visibility condition that interaction. We showed that proportion of invertebrates consumed was dependent on the hunting modes type of piscivores. The presence of aquatic plants increased the survival of aquatic invertebrates, except in the treatments with *A. crassipinnis*. Considering physiological responses of fish invertebrates, we showed that the presence of piscivores caused an increase in plasma levels of cortisol in *A. bimaculatus*, however, there was no significant difference between treatments with two types of piscivores. On the other hand, no significant change was observed for the plasma glucose levels, as well as no changes were found between clear and turbid water treatments. We conclude that hunting modes of piscivores affect differently the food chain, however plasma levels of cortisol and glucose by invertebrates for both piscivores are similar and independent of anti-predation behavior.

Keywords: Predation threat. Top-down effect. Freshwater fishes. Predation pressure.

Dissertação formatada conforme as normas da publicação científica *Environmental Biology of Fishes*. Disponível em: <<http://www.springer.com/life+sciences/ecology/journal/10641>>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	9
REFERÊNCIAS	10
2 HUNTING MODES OF PISCIVOROUS FISH MAY DRIVE THE INTENSITY OF PREDATION PRESSURE ON INVERTEBRATE POPULATIONS	12
ABSTRACT	12
2.1 INTRODUCTION	13
2.2 METHODS	14
2.2.1 Experimental design	14
2.2.2 Sampling	16
2.2.3 Data analysis	17
2.3 RESULTS	17
2.4 DISCUSSION	20
REFERENCES	22
3 RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PEIXES PRESAS A PRESENÇA DE PISCÍVOROS E AO AUMENTO DA TURBIDEZ DA ÁGUA	27
RESUMO	27
3.1 INTRODUÇÃO	28
3.2 MÉTODOS	30
3.2.1 Delineamento experimental	30
3.2.2 Amostragem.....	31
3.2.3 Análise dos dados	32
3.3 RESULTADOS.....	33
3.4 DISCUSSÃO	34
REFERÊNCIAS	36
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	40

1 INTRODUÇÃO GERAL

A predação pode ser considerada uma das principais forças estruturadoras em ambientes aquáticos, afetando a dinâmica de populações e a estrutura de comunidades (Kerfoot e Sih 1987; Carpenter e Kitchell 1993; McCann 2011). Em peixes, as estratégias de caça de piscívoros, tais como senta-e-espera (sedentários ou emboscadores) e perseguição ativa causam diferentes respostas comportamentais às presas (Peckarsky e McIntosh 1998; Guariento et al. 2014). Dessa forma, as consequências da predação sobre as populações de presas podem ser influenciadas pelas estratégias de caça de predadores (Nilsson et al. 2007; Schmitz 2007; Schmitz 2008). Além disso, os efeitos da predação por peixes piscívoros propagam-se para os menores níveis tróficos, através do efeito cascata (Carpenter et al. 1985; Pace et al. 1999) e consequentemente podem influenciar distintamente a sobrevivência de invertebrados aquáticos (Eklöv e VanKooten 2001; Mazzeo et al. 2010).

Além de alterações comportamentais, o estresse causado por piscívoros desencadeia respostas fisiológicas em peixes presas (Bell et al. 2007), como por exemplo o aumento nos níveis plasmáticos de cortisol e glicose (Martínez-Porchas et al. 2009). Se essas alterações fisiológicas persistirem durante longo período podem ocasionar efeitos deletérios, como por exemplo, mudança no crescimento, inibição da reprodução e redução da atividade ou eficiência do sistema imunológico (Barton e Iwama 1991; Barton 2002). Por conseguinte, espera-se que os níveis plasmáticos de cortisol e glicose apresentem diferentes intensidades de acordo com o comportamento que a presa desenvolve em resposta as diferentes estratégias de caça dos predadores.

No contexto da interação predador-presa, a presença de plantas aquáticas como componentes estruturantes, assim como o nível de luminosidade subaquática são fatores que podem interferir na eficiência de captura de predadores. (Eklöv 1997; Kovalenko et al. 2010; Becker e Gabor 2012). Nesse sentido, a complexidade estrutural tende a limitar a movimentação de grandes predadores e reduzir a taxa de encontro entre predadores e presas (Diehl 1988; Padial et al. 2009), enquanto que ambientes túrbidos promovem refúgio visual para presas, tornando-as menos perceptíveis aos predadores e reduzindo o risco de predação (Ranåker et al. 2012; Figueiredo et al. 2016). Desse modo, a presença de plantas aquáticas, assim como condições de visibilidade subaquática podem ser importantes mediadores da interação predador-presa, podendo interferir no comportamento das presas em resposta a presença de piscívoros com distintas estratégias de caça.

Nessa dissertação, objetivou-se identificar como piscívoros, com distintas estratégias de caça (senta-e-espera – *Hoplias* aff. *malabaricus* e perseguição ativa – *A. crassipinnis*),

afetam populações de peixes presas (*Astyanax*), quanto ao tipo de invertebrados consumidos e quanto às mudanças fisiológicas decorrentes do comportamento de antipredação. O primeiro experimento avalia a sobrevivência de diferentes invertebrados aquáticos (*Chironomus sancticaroli* – bentônico e *Daphnia magna* – zooplancônico) numa cadeia composta pelo invertívoro *Astyanax altiparanae* e com os piscívoros supracitados, combinados em ambientes com e sem plantas aquáticas. O segundo experimento avalia as alterações fisiológicas de *Astyanax bimaculatus* em resposta aos piscívoros e o papel da condição de visibilidade subaquática nessa interação.

REFERÊNCIAS

- Barton BA (2002) Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. *Int and Comp Bio* 42 (3): 517-525. doi: 10.1093/icb/42.3.517
- Barton BA, Iwama GK (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Rev of Fish Diseases* 1: 3-26. doi: 10.1016/0959-8030(91)90019-G
- Becker LJS, Gabor CR (2012) Effects of turbidity and visual vs. chemical cues on anti-predator response in the endangered fountain darter (*Etheostoma fonticola*). *Ethology* 118: 994–1000. doi: 10.1111/eth.12002
- Bell AM, Backström T, Huntingford AF, Pottinger TG, Winberg S (2007). Variable neuroendocrine responses to ecologically-relevant challenges in sticklebacks. *Physiol and Behav* 91, 15–25. doi:10.1016/j.physbeh.2007.01.012
- Carpenter SR, Kitchell JF, Hodgson JR (1985) Cascading trophic interactions and lake productivity. *BioScience* 35: 634-639. doi: 10.2307/1309989
- Carpenter SR, Kitchell JF (1993) The trophic cascade in lakes. Cambridge University Press: New York.
- Diehl S (1988) Foraging efficiency of three freshwater fishes: effects of structural complexity and light. *Oikos* 53: 207–214. doi: 10.2307/3566064
- Eklöv P, Vankooten T (2001) Facilitation among piscivorous predators: effects of prey habitat use. *Ecology* 82: 2486–2494. doi: 10.1890/0012-9658
- Eklöv P (1997) Effects of habitat complexity and prey abundance on the spatial and temporal distributions of perch (*Perca fluviatilis*) and pike (*Esox lucius*). *Can J Fish Aquat Sci* 54: 1520–1531, 1997. doi: 10.1139/f97-059
- Figueiredo BRS, Mormul RP, Chapman BB, Lolis LA, Fiori LF, Benedito E (2016) Turbidity amplifies the non-lethal effects of predation and affects the foraging success of characidn fish shoals. *Freshwater Biol.* doi: 10.1111/fwb.12703
- Guariento RD, Luttbeg B, Mehner T, Esteves FA (2014) The effect of predation pressure and predator adaptive foraging on the relative importance of consumptive and non-consumptive predator net effects in a freshwater model system. *Oikos* 123: 705–713. doi: 10.1111/j.1600-0706.2013.01201.x

- Kerfoot WC, Sih A (1987) *Predation: Direct and Indirect Impacts on Aquatic Communities*. Hanover NH: University Press of New England
- Kovalenko KE, Dibble ED, Agostinho AA, Pelicice FM (2010) Recognition of non-native peacock bass, *Cichla kelberi* by native prey: testing the naiveté hypothesis. *Biol Invasions* 12: 3071–3080. doi: 10.1007/s10530-010-9698-7
- Martínez-Porchas M, Martínez-Córdova LR, Ramos-Enriquez R (2009) Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 4(2): 158-178.
- Mazzeo N, Iglesias C, Teixeira-de Mello F, Borthagaray A, Fosalba C, Ballabio R, Larrea D, Vilches J, García S, Pacheco JP, Jeppesen E (2010) Trophic cascade effects of *Hoplias malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae) in subtropical lakes food webs: a mesocosm approach. *Hydrobiologia* 644:325–335. doi: 10.1007/s10750-010-0197-8
- McCann, K.S (2011) *Food Webs*. Princeton, NJ: Princeton University Press
- Nilsson PA, Lundberg P, Brönmark C, Persson, Turesson H (2007) Behavioral interference and facilitation in the foraging cycle shape the functional response. *Behav Ecol* 18:354–357. doi: 10.1093/beheco/arl094
- Pace ML, Cole JJ, Carpenter SR, Kitchell JF (1999) Trophic cascades revealed in diverse ecosystems. *Trends Ecol Evol* 14: 483–488. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01723-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01723-1)
- Padiá AA, Thomaz SM, Agostinho AA (2009) Effects of structural heterogeneity provided by the floating macrophyte *Eichhornia azurea* on the predation efficiency and habitat use of the small Neotropical fish *Moenkhausia sanctaefilomena*. *Hydrobiologia* 624: 161–170. doi: 10.1007/s10750-008-9690-8
- Peckarsky BL e McIntosh AR (1998) Fitness and community consequences of avoiding multiple predators. *Oecologia* 113: 565-576. doi: 10.1007/s004420050410
- Ranåker L, Nilsson PA, Brönmark C (2012) Effects of Degraded Optical Conditions on Behavioural Responses to Alarm Cues in a Freshwater Fish. *Plos One* 7(6): e38411. doi:10.1371/journal.pone.0038411
- Schmitz OJ (2008) Effects of Predator Hunting Mode on Grassland Ecosystem Function. *Science* 319: 952-954. doi: 10.1126/science.1152355
- Schmitz OJ (2007) Predator diversity and trophic interactions. *Ecology* 88: 2415-2426. doi: 10.1890/06-0937.1

2 HUNTING MODES OF PISCIVOROUS FISH MAY DRIVE THE INTENSITY OF PREDATION PRESSURE ON INVERTEBRATE POPULATIONS

ABSTRACT

Non-lethal effects of top predators on prey populations can be as important as lethal effects. Assuming that prey learned to recognize sit-and-wait predators (that wait prey approximation for striking) and active pursuit predators (which pursuit them) during its evolutionary history, the effect size of non-lethal cues can be shaped by top-predator hunting modes. Here, we evaluated whether the non-lethal cues from both sit-and-wait piscivorous (*Hoplias* aff. *malabaricus*) and active piscivorous (*Astronotus crassipinnis*) affect the survival of different populations of invertebrates (*Chironomus sancticaroli* – benthic and *Daphnia magna* – planktonic) via constraining the feeding activity of a shoal of invertivorous fish (*Astyanax altiparanae*). We tested the hypothesis that non-lethal effects of active piscivorous result in greater survival rates for populations of aquatic invertebrates, compared to sit-and-wait piscivorous. Additionally, we assessed whether the refuge availability (presence vs. absence of artificial plants) could change such relation between non-lethal effects and invertebrate survival. Also, we checked whether the electivity pattern of invertebrates by *A. altiparanae* is altered by the presence of either active or sit-and-wait predators. We found that survival of invertebrates (benthic + planktonic) did not differ between treatments with the presence of *A. crassipinnis* and *H. aff. malabaricus*, however proportion of the invertebrates types consumed were different depending on types of hunting modes of piscivorous fish. *Astyanax altiparanae* consumed indistinctly both types of invertebrates when *A. crassipinnis* was presence, while less *C. sancticaroli* were eaten when *H. aff. malabaricus* was presence. The presence of aquatic plants modified the effect size of non-lethal piscivorous on survival of aquatic invertebrates, in which invertebrate survival was lower in treatments with *A. crassipinnis* and aquatic plants if compared to no aquatic plants treatments. We suggest that two hunting modes of piscivorous fish can produce different effects on the food chain, affecting differently invertebrate populations survival of different types.

Keywords: Anti-predator behavior; Evolutionary history; Predation threat; Predator-prey interaction

2.1 INTRODUCTION

Top predators perform a key role in the communities structuring, because predation pressure on their prey populations can impact the survival in lower trophic levels, in a process called trophic cascade (Carpenter et al. 1985; Pace et al. 1999). For aquatic ecosystems, it can be predicted that increasing the piscivorous biomass will reduce both zooplanktivorous and benthivorous fish biomass, leading to enhanced biomass of aquatic invertebrates (Benndorf et al. 2002; Jeppesen et al. 2003). The main limitation from this traditional concept of trophic cascade is considering only the top predators foraging success (i.e. the lethal effects). However, the simple presence of a top predator may also provide an indirect or non-lethal cost for prey, which often spends more time in vigilance state after perceiving the predation threat (Lima 1998; Werner and Peacor 2006; Hoeinghaus and Pelicice 2010; Kovalenko et al. 2010; Ajemian et al. 2015). When prey plays the anti-predation behavior, it concomitantly reduces its own feed rate as result from the reduction in its activities related to foraging (Ahlgren et al. 2011; Leahy et al. 2011; Pangle et al. 2012). So, behavioral changes of prey generated from the presence of predators can be decisive for the habitat use patterns in natural systems, and may be more pronounced than the effects observed resulting from direct predation (Romare and Hansson 2003).

High diversity of piscivorous is reported to tropical aquatic environments, (Lowe-McConnell 1987; Agostinho et al. 2000) which suggests the existence of a wide specter of predator hunting modes. Nevertheless, the impacts of predators are often treated as a subset of a single trophic level (Fretwell 1987; Loreau et al. 2001), and generally different predators are considered as functionally replaceable with similar effects on ecosystems (Chalcraft and Resetarits 2003). However, this concept has been heavily criticized, since multiple predators have demonstrated distinct impacts on the same population of prey (Bryan 2002; Schmitz 2007; Cresswell and Quinn 2013). The top-predator foraging behavior is a key functional trait driving the predator-prey interactions (Lazzaro et al. 2009). It may be predicted that piscivorous fish with different hunting modes may have different impacts on their prey and consequently to the lower trophic levels (Guariento et al. 2014). For instance, sit-and-wait predators have low mobility while remain waiting for the prey, on the other hand, active pursuit predators have high mobility constantly seek their prey. Each hunting mode might generate different balance points, and sometimes may drive invertivorous species to eat different food items (Persson and Eklöv 1995). In general, when a predator occupies a given area, it creates a small safety area, which might be used by invertebrates. In this scenario,

invertivorous could not decrease their foraging success, but instead they alter the chosen food item (Stuart-Smith et al. 2007).

Presence of refuge allows invertebrates and invertivorous to hide, avoiding be eaten (Lima 1998, Brown and Kotler 2004; Cooper 2009). In aquatic habitats, high structural complexity of submersed aquatic bed limits the movement of large predators and reduces the encounter rate between predators and prey species (Diehl 1988; Padial et al. 2009). Therefore, a more complex habitat can provide an immediate benefit for small fish, to reduce their probability of being consumed, as they can also promote changes in the use of space. The relation between prey and refuge may shape the effect size of the presence of a potential predator on prey behavioral response. For this reason, the presence of aquatic plants could modify the non-lethal effect of piscivorous on survival of aquatic invertebrates

Here, we aimed to assess whether non-lethal effects exerted by sit-and-wait piscivorous (*Hoplias aff. malabaricus*) or active piscivorous (*Astronotus crassipinnis*) on invertivorous fish (*Astyanax altiparanae*) affect the survival of different populations of invertebrates (*Chironomus sancticaroli* – benthic and *Daphnia magna* – zooplankton). We tested the hypothesis that non-lethal cues from active piscivorous provide greater survival for populations of aquatic invertebrates, compared to sit-and-wait piscivorous. Additionally, we examined whether presence of aquatic plants may modify the effect size non-lethal of piscivorous on survival of aquatic invertebrates. Lastly, we checked whether the pattern electivity of invertebrates by *Astyanax altiparanae* is altered by the presence of active or sit-and-wait predators.

2.2 METHODS

2.2.1 Experimental design

We conducted an experiment in mesocosm, in which we evaluated the foraging success and food electivity of a shoal (n = 3) of invertivorous fish (*Astyanax altiparanae* Garutti and Britski, 2000 - Total Length (TL) 8.6 cm \pm 1.1cm), in treatments without threat of piscivorous fish and with presence of piscivorous with different food strategy, either sit-and-wait, (*Hoplias aff. malabaricus* Bloch, 1794 - TL 27.2 \pm 0.35 cm) or active pursuit (*Astronotus crassipinnis* Heckel, 1840 - TL 25.6 \pm 0.20 cm). These treatments were combined with absence and the presence of refuge of low complexity habitat (e.g. Figueiredo et al. 2015) (two artificial fragments of submersed aquatic plants — 30 cm). So, the experimental design consisted of six treatments replicated five times: (1) no predators and no aquatic plants = NPNAP; (2) with *H. aff. malabaricus* and no aquatic plants = HMNAP; (3) with *A.*

crassipinnis and no aquatic plants = ACNAP; (4) No predators and with aquatic plants = NPWAP; (5) with *H. aff. malabaricus* and with aquatic plants = HMWAP; (6) with *A. crassipinnis* and with aquatic plants = ACWAP (Fig. 1). All treatment combination received 7 *Chironomus sanctiparoli* Strixino and Strixino (1981) in the larval stage (medium length 7 ± 1.6 mm) and 15 *Daphnia magna* Straus (1820) (2 ± 0.6 mm) as prey. We used rectangular aquariums as experimental units (total volume ~ 35 l; width = 25 cm; length = 45 cm; height = 35 cm).

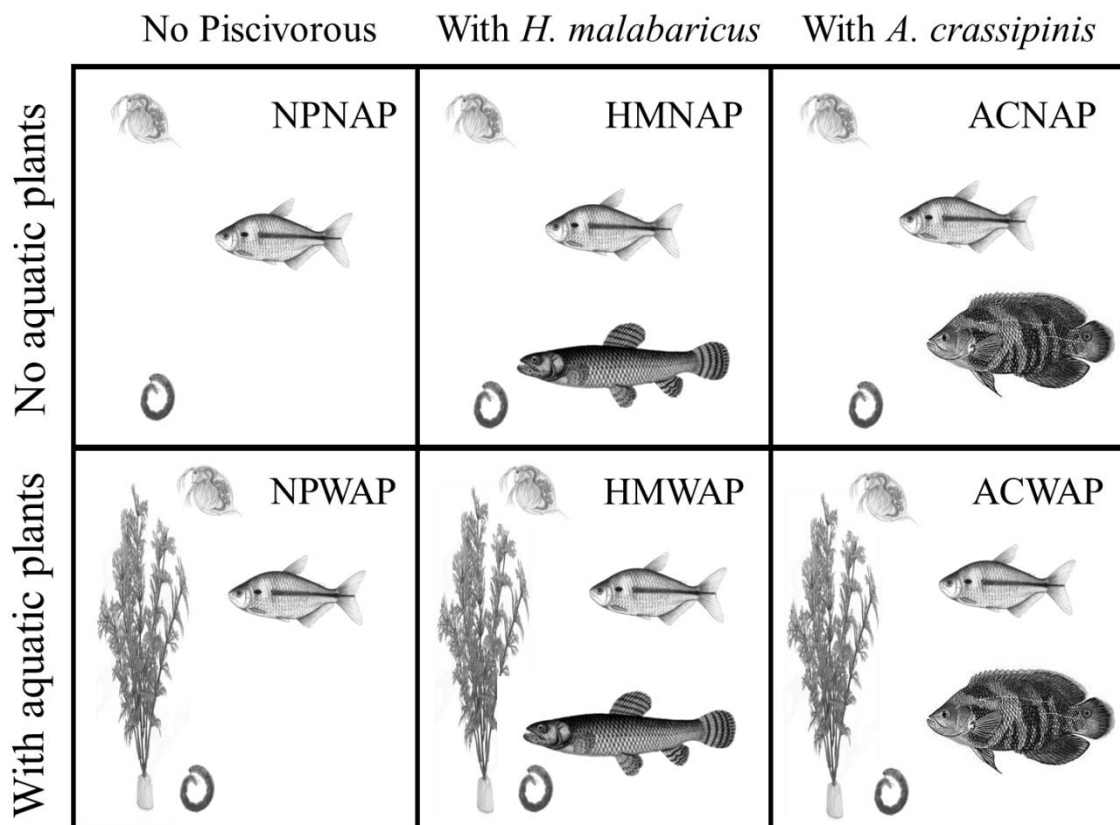


Fig. 1 Experimental design (six treatments replicated five times). Treatment no predators and no aquatic plants = NPNAP, with *H. aff. malabaricus* and no aquatic plants = HMNAP, with *A. crassipinnis* and no aquatic plants = ACNAP, No predators and with aquatic plants = NPWAP, with *H. aff. malabaricus* and with aquatic plants = HMWAP, with *A. crassipinnis* and with aquatic plants = ACWAP.

Hoplias aff. malabaricus is considered the main piscivorous in isolated seasonal lakes in the upper Paraná River floodplain, being a keystone species in these environments (Petry et al. 2010), once it feeds upon almost all fish species. The capture strategy of *H. aff. malabaricus* is classified as sit-and-wait (or sedentary predator), capturing prey for ambush (Montenegro et al. 2013). Another important piscivore fish in the upper Paraná River is *Astronotus crassipinnis*, which is considered an invasive species, probably introduced by

aquarists since 2000 (Abujanra et al. 2009; Horácio-Junior et al. 2009). Our observations in mesocosms allow us to state that *A. crassipinnis* seek their prey, although poorly recorded in natural environments. In the Upper Paraná River floodplain there is a wide invertivorous species diversity (usually small fish) and this *Astyanax altiparanae* has high abundance and wide distribution in the upper Paraná River floodplain. This species in natural environment form shoals that reach 20 individuals (Sazima 1986) and belongs to the most diverse fish genus of Neotropical region. This fish may obtain food in several compartments of the water column (Hahn et al. 2004; Peretti and Andrian, 2008), influencing several populations of aquatic invertebrates.

2.2.2 Sampling

Fish were collected in summer 2014 with trawl (long: 20 m; net mesh: 5 mm), in aquatic environments connected to the Paraná River, Brazil, and thereafter, transported to the laboratory, where the experiment was conducted. *C. sancticaroli* and *D. magna* individuals were cultivated in tanks at laboratory located in State University of Maringá. We used different densities of invertebrates to simulate the actual proportions of these types found in the natural environment (e.g. Thomaz et al. 2008). It is worth mentioning that Chironomidae and Daphniidae are important food items of *A. altiparanae* (Casatti et al. 2003; Gomiero and Braga 2008).

The piscivorous were fed before the experiment to prevent the consumption invertivorous fish. So, no small fish were eaten during experimental period. With this procedure, piscivorous do not release any hungry cues in the water (Åbjörnsson et al. 1997), which can be identified as a predation threat by fish invertivorous (Figueiredo et al. 2015). Thus, in treatments with predator, we simultaneously inserted chemical cues from a hungry predator (hereafter “chemical cues”), which was obtained by keeping the piscivorous in tanks of 100 liters without food for 48 hours. After this period, the water samples with the predator secretions were collected with a syringe for later use (e.g. Ferrari et al. 2008; Epp and Gabor 2008; Kovalenko et al. 2010; Becker and Gabor, 2012).

We performed prior trials to determine the used density of *A. altiparanae* and a satisfactory number of invertebrates, considering dimensions aquarium and the experiment duration. Thus, we decided to use three invertivorous fish (*A. altiparanae*) and 22 invertebrates (*C. sancticaroli* + *D. magna*) in each experimental unit. The invertivorous species was added 24 hours before to the experiment start for acclimatization period. The experiment began with introduction of piscivorous together of their chemical cues (150 ml) in

the experimental units, then we inserted the invertebrates. In the treatments without piscivorous, we add the same amount of water to standardize the stress caused by the change of water in the aquarium. The experiment time was one hour. After this period all the fish were removed, the filtered water and final amount of invertebrates were counted. The experiment was conducted in two experimental units blocks with all treatments.

2.2.3 Data analysis

To test our hypothesis we performed a two-way analysis of variance and we verified differences between treatments using *Fisher* LSD. We using as response variable the number of prey survived at the end of the experimental period converted to percentage. Predation risk type (absence, presence of a sit-and-wait fish and presence of an active pursuit fish) and refuge availability (presence or absence of aquatic plants) were considered as independent variables. To check electivity by *A. altiparanae* for the invertebrates type, we calculate the index eletivity (Ivlev, 1961) using initial and final amount of each type of prey. The values of this index range from -1.0 to +1.0, values of between 0 to +1.0 indicate preference, while values between -1,0 to 0 indicate rejection of prey (Krebs 1989). Considering that 0 (zero) represents no prey selectivity, we conducted in a t-test comparing the percentages of *C. sancticaroli* and *D. magna* consumed in each treatment combination with the average 0. Significant results indicate selection or rejection of a given prey. All tests were performed using the *software Statistica 7.1*® (Statsoft 2005), considering $P < 0.05$ for significant results.

2.3 RESULTS

The presence of piscivorous fish caused greater survival of aquatic invertebrates (Fig. 2), however invertebrates survival did not differ between treatments with the presence of *A. crassipinis* and *H. aff. malabaricus* (Table 1 – Fig. 2).

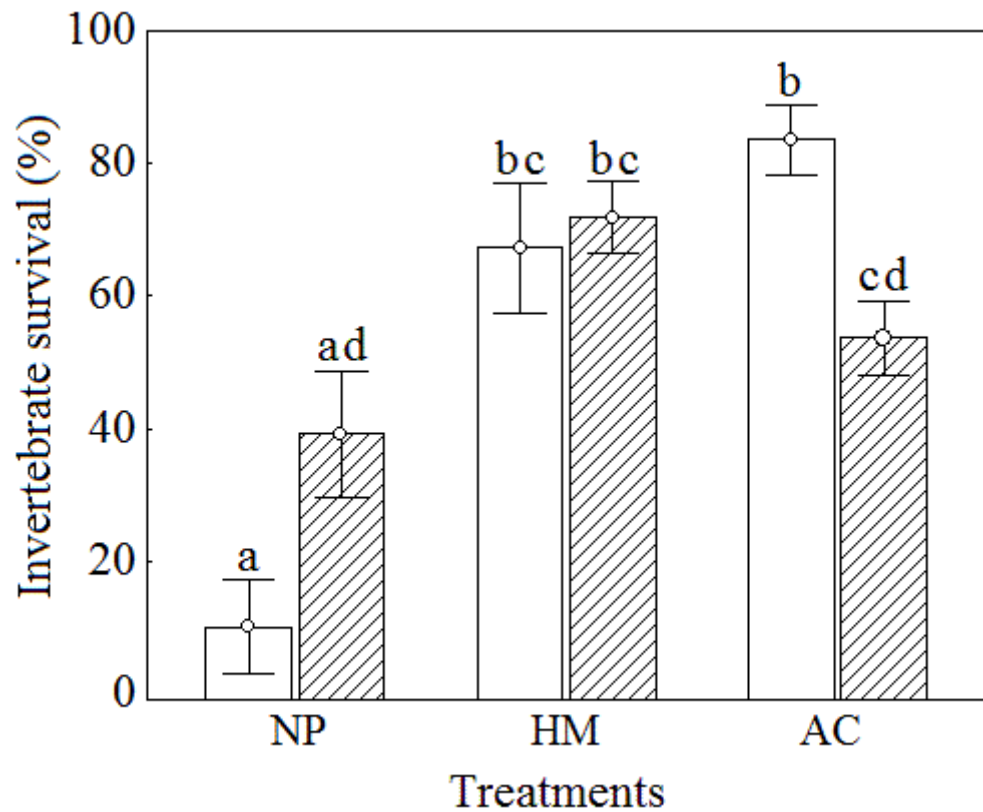


Fig. 2 Mean and standard error of percentage of the total survival of aquatic invertebrates (n=5), with aquatic plants (striped box) and no aquatic plants (white box). NP = no predators, HM = *Hoplias aff. Malabaricus*, AC = *Astronotus crassipinnis*. Shared letters above bars indicate no significant difference at $p < 0.05$ in post hoc Fisher LSD.

Table 1 Post-hoc *Fisher* LSD test between treatments which differ in a response variable. NPNAP = no predators and no aquatic plants, HMNAP = with *H. aff. malabaricus* and no aquatic plants, ACNAP = with *A. crassipinnis* and no aquatic plants, NPWAP = no predators and with aquatic plants, HMWAP = with *H. aff. malabaricus* and with aquatic plants, ACWAP = with *A. crassipinnis* and with aquatic plants. Bold values indicate significant differences ($p < 0.05$).

Variables	<i>p</i>
NPNAP x HMNAP	0.000
NPNAP x ACNAP	0.000
HMNAP x ACNAP	0.163
NPWAP x HMWAP	0.001
NPWAP x ACWAP	0.065
HMWAP x ACWAP	0.123

NPNAP x NPWAP	0.096
HMNAP x HMWAP	0.693
ACNAP x ACWAP	0.014

The presence of aquatic plants apparently increased the invertebrate survival when piscivorous fish was absent, but the pattern was not statistically significant. Moreover, in treatments with *A. crassipinis*, invertebrate survival was lower with aquatic plants if compared to no aquatic plants treatments (Table 1 – Fig. 2). Furthermore, aquatic plants presence modified the effect size of non-lethal piscivorous on survival of aquatic invertebrates ($F_{2,30} = 5.01$; $P = 0.01$).

Invertivorous fish preferably consumed *D. magna* when piscivorous fish absent, independent of plant presence (Table 2 – Fig. 3). When *H. aff. malabaricus* was present, they maintained their preference for *D. magna* (Table 2 – Fig. 3), however survival of *C. sancticaroli* was 24.2 when piscivorous fish absent and 91.4% when *H. aff. malabaricus* was presence, probably for both using bottom of the experimental unit. In contrast, in treatment with *A. crassipinis*, invertivorous fish consumed indistinctly both types of invertebrates (Table 2 – Fig. 3).

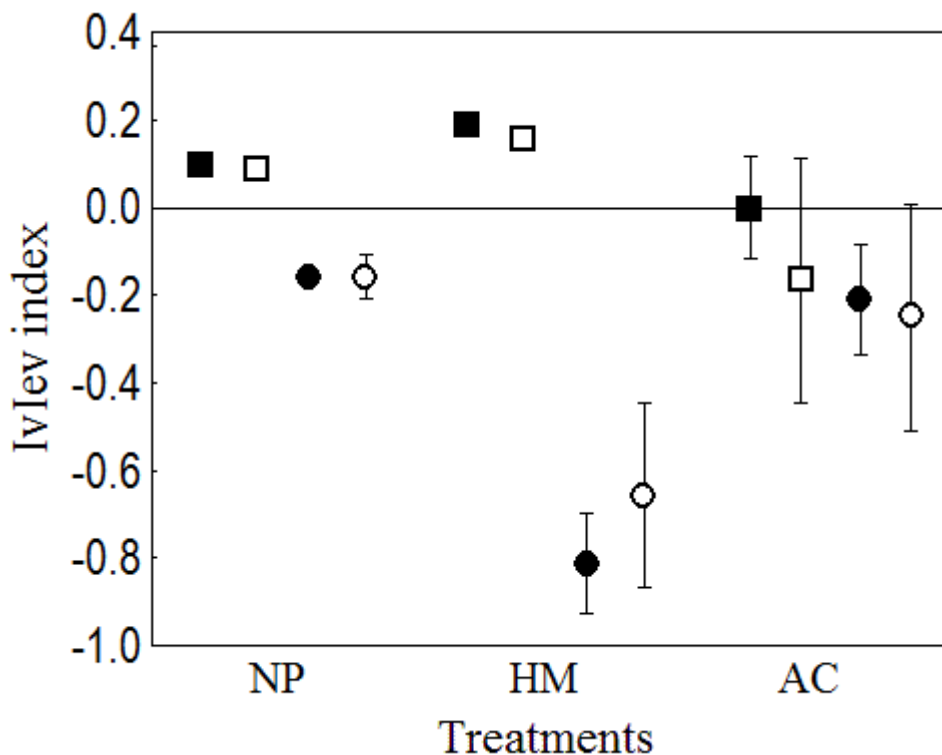


Fig. 3 Mean and standard error of the selectivity index by *A. altiparanae*, related to selectivity to *C. sancticaroli* no piscivorous fish, with *H. aff. Malabaricus* and with *A. crassipinis*, with aquatic plants (dark circle) and no aquatic plants (clear circle), and selectivity to *D. magna* no piscivorous fish, with

H. aff. Malabaricus and with *A. crassipinis*, with aquatic plants (dark circle) and no aquatic plants (clear circle). NP = no predators, HM = *Hoplias aff. Malabaricus*, AC = *Astronotus crassipinnis*.

Table 2 *t*-test comparing the percentages of *C. sancticaroli* and *D. magna* consumed in each treatment with the expected pattern if a aleatory consumption (zero mean) (CSWAP = *C. sancticaroli* with aquatic plants, CSNAP = *C. sancticaroli* no aquatic plants, DMWAP = *D. magna* with aquatic plants, DMNAP = *D. magna* no aquatic plants). Bold values indicate significant differences.

Treatment	df	N	<i>t</i>	<i>P</i>
No piscivorous				
CSWAP	4	5	-6.72	0.002
CSNAP	4	5	-2.72	0.053
DMWAP	4	5	16.43	0.001
DMNAP	4	5	4.76	0.001
<i>H. aff. malabaricus</i>				
CSWAP	4	5	-6.82	0.002
CSNAP	4	5	-3.01	0.041
DMWAP	4	5	28.82	0.001
DMNAP	4	5	6.74	0.002
<i>A. crassipinnis</i>				
CSWAP	4	5	-1.48	0.212
CSNAP	4	5	-0.871	0.448
DMWAP	4	5	0.19	0.860
DMNAP	4	5	-0.52	0.637

2.4 DISCUSSION

We found that sit-and-wait and active pursuit predator similarly enhanced the survival of organisms in lower trophic level. This means that hunting modes did not alter the number of prey consumed, but instead they influenced the selection by a kind of invertebrate. In the treatments without predator, there was the lowest survival of both aquatic invertebrate species, and invertivorous fish have had a preference by *D. magna*. The terminal mouth of *A. altiparanae* (Peretti and Andrian 2008) and its habitat use pattern can explain the predilection

for planktonic prey. In general, the survival of invertebrates (benthic + planktonic) was higher when top-predators were present. However, the relation between prey survival and top-predator influence on invertivorous fish is completely dependent to invertebrate species and the hunting mode of piscivorous. If on one hand the presence of *H. aff. malabaricus* strongly increased the survival of benthic invertebrates, on the other hand, the presence of *A. crassipinis* equally enhanced the survival of both invertebrate species. We suggest that space use pattern by piscivorous drove the food selectivity of invertivorous. For instance, sit-and-wait predator fish occupied the bottom of the experimental units where *C. sancticaroli* also inhabited. If so, then *A. altiparanae* avoided the deeper area of perceived risk, and therefore did not consume benthic prey. Conversely, we suggest that the constant swimming activity of *A. crassipinis* around the experimental unit could generate an intense movement-response of invertivorous fish, which led the shoal them to indistinctly ingest both prey available.

Aquatic plants are commonly portrayed as safety habitats (see Meerhoff et al. 2007) protecting invertebrates against predation of small fish by decreasing the encounter rate between them (Diehl 1988). However, we observed that the role of refuge availability on invertebrate survival depends on hunting mode of piscivorous fish. In the absence of predators, the invertebrate survival, although noticeably higher in the presence of plants (mean survival: 39%), was not significantly different to the treatment without plants (mean survival: 10%). No differences between vegetated and non-vegetated habitats were also found in the presence of *H. aff. malabaricus*. The low habitat complexity (provided by only two stems of plants) used in our trials could be the factor underlying such non-statistically significant results (Cunha et al. 2012; Figueiredo et al. 2015). In contrast, in the presence of *A. crassipinis*, the survival of aquatic invertebrates was higher in treatments without aquatic plants compared to treatment with aquatic plants. Considering that both invertebrates population had their survival similarly decreased with active pursuit, the better feeding ability of invertivorous shoal in structured environment could be an appropriate hypothesis to explain such finding. It has been proposed an inverse correlation between aquatic plants cover and fish welfare (described in terms of behavior and feeding activity) (e.g. Kistler et al. 2011). If so, the presence of plants could somehow provide an improvement in ability of the *A. altiparanae* shoal in feed while avoid predators. Moreover, low complexity of submerged macrophytes is not a good refuge for large zooplankton like *Daphnia* (Meerhoff et al. 2006; Tavşanoğlu et al. 2012) nor for Chironomids (Figueiredo et al. 2015), mainly because invertivorous fish can also occupy the plants, or even remain close of refuge to have better chances of escape from the piscivorous strike (e.g. Brendonck et al. 2003).

Reduction of invertebrates consumption for *A. altiparanae* when piscivorous fish was present can represent a loss on *fitness* of the population. However, it was clearly observed a kind of opportunistic behavior of *A. altiparanae*, which changed their prey ingested according to the type of danger provided by piscivorous fish. Thus, we suggest that the trade-off between feed and hide can be modulated by the kind of hunting mode of top-predator, because opportunistic species can shift their food preference according its habitat utilization on response to predation risk (Brown and Moyle 1991; Macreadie et al. 2012; Guariento et al. 2014). Different situations of danger may lead to different answers for prey that are likely taken as the best way to escape the possible predation, for example, prey can remain immobile in the background when an active pursuit predators is present, while it goes to another location when a sit-and-wait predator is present (Peckarsky and McIntosh 1998), but even under risk of being eaten, they should feed of the available items around them. In this study, we do not quantify the behavior of habitat choice by *A. altiparanae*, however based on the preferences modifications for the type of invertebrates, we can suggest that anti-predator behavior also can happen differently in the presence of top predators with different hunting modes.

Our results do not support the hypothesis that non-lethal cues from active piscivorous provide greater survival for populations of aquatic invertebrates, compared to sit-and-wait piscivorous, however indicate the existence of behavioral cascades (e.g. Romare and Hansson 2003) in which different hunting modes of piscivorous fish have distinct effects on invertivorous fish, and ultimately on the survival proportion of different invertebrates species. In this way, we suggest that fish with different feeding tactics can produce different effects on the food chain. Thus, these different interactions can help explain the distribution patterns of species in natural aquatic environments. In special, new studies must be considered in larger temporal scales, in which others links in the food chain can be considered as primary producers.

REFERENCES

- Åbjörnsson K, Wagner BMA, Axelsson A, Bjerselius R, Olsén KH (1997) Responses of *Acilius sulcatus* (Coleoptera: Dytiscidae) to chemical cues from perch (*Perca fluviatilis*). *Oecologia* 111: 166–171. doi: 10.1007/s004420050221
- Abujanra F, Agostinho AA, Hahn NS (2009) Effects of the flood regime on the body condition of fish of different trophic guilds in the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Braz J Biol* 69: 469-479. doi: 10.1590/S1519-69842009000300003

- Agostinho AA, Thomaz SM., Minte-Vera CVM, Winemiller KO (2000) Biodiversity in the high Paraná river floodplain. In: Gopal B, Junk WJ, Davis JA (Org.). Biodiversity in wetlands: assessment, function and conservation. Leinden, the Netherlands, Backhuys Publishers pp 89-118.
- Ahlgren J, Åbjörnsson K, Brönmark C (2011) The influence of predator regime on the behaviour and mortality of a freshwater amphipod, *Gammarus pulex*. *Hydrobiologia* 67:139–49. doi: 10.1007/s10750-011-0702-8
- Ajemian MJ, Sohel S, Mattila J (2015) Effects of turbidity and habitat complexity on antipredator behavior of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Environ Biol Fish* 98:45–55. doi: 10.1007/s10641-014-0235-x
- Becker LJS, Gabor CR (2012) Effects of turbidity and visual vs. chemical cues on anti-predator response in the endangered fountain darter (*Etheostoma fonticola*). *Ethology* 118: 994–1000. doi: 10.1111/eth.12002
- Benndorf J, Boing W, Koop J, Neubauer I (2002) Top-down control of phytoplankton: the role of time scale, lake depth and trophic state. *Freshw Biol* 47: 2282–2295. doi: 10.1046/j.1365-2427.2002.00989.x
- Brendonck L, Maes J, Rommens W, Dekeza N, Nhiwatiwa T, Barson M, Callebaut V, Phiri C, Moreau K, Gratwicke B, Stevens M, Alyn N, Holsters E, Ollevier F, Marshall B (2003) The impact of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) in a eutrophic subtropical impoundment (Lake Chivero, Zimbabwe). II. Species diversity. *Arch Hydrobiol* 158: 389-405. doi: 10.1127/0003-9136/2003/0158-0389
- Brown JS, Kotler BP (2004) Hazardous duty pay and the foraging cost of predation. *Ecol Lett* 7: 999–1014. doi: 10.1111/j.1461-0248.2004.00661.x
- Brown LR, Moyle PB (1991). Distribution, ecology, and status of the fishes of the San Joaquin River drainage, California. *Calif Fish Game* 79: 96–114.
- Bryan SD, Robinson AT, Sweetser MG (2002) Behavioral responses of a small native fish to multiple introduced predators. *Environ Biol Fish* 63: 49–56. doi: 10.1023/A:1013899125938
- Carey MP, Wahl DH (2010) Interactions of multiple predators with different foraging modes in an aquatic food web. *Oecologia* 162: 443–452. doi: 10.1007/s00442-009-1461-3
- Carpenter SR, Kitchell JF, Hodgson JR (1985) Cascading trophic interactions and lake productivity. *BioScience* 35: 634-639. doi: 10.2307/1309989
- Casatti L, Mendes HF, Ferreira KM (2003). Aquatic macrophytes as feeding site for small fishes in the Rosana reservoir, Paranapanema river, southeastern Brazil. *Braz. J. Biol* 63: 213-222. doi: 10.1590/S1519-69842003000200006
- Chalcraft DR, Resetarits WJ (2003) Mapping functional similarities of predators on the basis of trait similarities. *Am Nat* 162: 390–402. doi: 10.1086/378210
- Cooper WE Jr (2009) Theory successfully predicts hiding time: new data for the lizard *Sceloporus virgatus* and a review. *Behav Ecol* 20: 585–592. doi: 10.1093/beheco/arp035
- Cresswell W, Quinn JL (2013) Contrasting risks from different predators change the overall non-lethal effects of predation risk. *Behav Ecol* 24: 871–876. doi:10.1093/beheco/art022
- Cunha ER, Thomaz SM, Mormul RP, Cafoto EG, Bonaldo AB (2012) Macrophyte structural complexity influences spider assemblage attributes in wetlands. *Wetlands* 32: 369–377. doi:10.1007/s13157-012-0272-1
- Diehl S (1988) Foraging efficiency of three freshwater fishes: effects of structural complexity and light. *Oikos* 53: 207–214.
- Eklöv P, Vankooten T (2001) Facilitation among piscivorous predators: effects of prey habitat use. *Ecology* 82: 2486–2494. doi:10.1890/0012-9658

- Epp KJ, Gabor CR (2008) Innate and Learned Predator Recognition Mediated by Chemical Signals in *Eurycea nana*. *Ethology* 114: 607–615. doi: 10.1111/j.1439-0310.2008.01494.x.
- Ferrari MCO, Messier F, Chivers DP (2008) Can prey exhibit threat-sensitive generalization of predator recognition? Extending the Predator Recognition Continuum Hypothesis. *Proc Biol Sci* 275: 1811–1816. doi: 10.1098/rspb.2008.0305
- Figueiredo BRS, Mormul RP, Benedito E (2015) Structural complexity and turbidity do not interact to influence predation rate and prey selectivity by a small visually feeding fish. *Mar Freshw Res* 66: 170-176. doi: <http://dx.doi.org/10.1071/MF14030>
- Fretwell S D (1987) Food-chain dynamics - the central theory of ecology. *Oikos* 50: 291–301.
- Gomiero LM, Braga FMS (2008) Feeding habits of the ichthyofauna in a protected area in the state of São Paulo, southeastern Brazil. *Biota Neotrop* 8: 41-47. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-06032008000100004>
- Grutters BMC, Pollux BJA, Verberk WCEP, Bakker ES (2015) Native and Non-Native Plants Provide Similar Refuge to Invertebrate Prey, but Less than Artificial Plants. *Plos One* 10: e0124455. doi: 10.1371/journal.pone.0124455.
- Guariento RD, Luttbeg B, Mehner T, Esteves FA. (2014) The effect of predation pressure and predator adaptive foraging on the relative importance of consumptive and non-consumptive predator net effects in a freshwater model system. *Oikos* 123: 705–713. doi: 10.1111/j.1600-0706.2013.01201.x
- Hahn NS, Fugi R, Andrian IF (2004) Trophic ecology of the fish assemblages. In SM Thomaz, AA Agostinho, NS Hahn (eds) *The upper Paraná river and its floodplain: physical aspects, ecology and conservation*. Leiden: Backhuys Publishers 247– 269 pp.
- Hoeinghaus DJ, Pelicice FM (2010) Lethal and nonlethal effects of predators on stream fish species and assemblages: A synthesis of predation experiments.. In Gido KB, Jackson DA. (eds) *Community ecology of stream fishes: concepts, approaches, and techniques*. American Fisheries Society, Bethesda 73: 619–648 pp.
- Horácio Jr. HFJ, Tós CD, Agostinho AA, Pavanelli CS (2009) A massive invasion of fish species after eliminating a natural barrier in the upper rio Paraná basin. *Neotrop Ichthyol* 7: 709-718. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252009000400021>
- Jeppesen E, Jensen JP, Jensen C, Faafeng B, Hessen DO, Søndergaard M, Lauridsen T, Brettum P, Christoffersen K (2003) The impact of nutrient state and lake depth on top-down control in the pelagic zone of lakes: A study of 466 lakes from the Temperate Zone to the Arctic. *Ecosystems* 6: 313–325. doi: 10.1007/s10021-002-0145-1
- Kistler C, Hegglin D, Würbel H, König B (2011) Preference for structured environment in zebrafish (*Danio rerio*) and checker barbs (*Puntius oligolepis*). *Appl Anim Behav Sci* 135: 318-327. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.applanim.2011.10.014>
- Kovalenko KE, Dibble ED, Agostinho AA, Pelicice FM (2010) Recognition of non-native peacock bass, *Cichla kelberi* by native prey: testing the naiveté hypothesis. *Biol Invasions* 12: 3071–3080. doi: 10.1007/s10530-010-9698-7
- Lazzaro X, Lacroix G, Gauzens B, Gignoux J, Legendre S (2009) Predator foraging behaviour drives food-web topological structure. *J Anim Ecol* 78: 1307–1317, doi: 10.1111/j.1365-2656.2009.01588.x
- Leahy SM, McCormick MI, Mitchell MD, Ferrari MCO (2011) To fear or to feed: the effects of turbidity on perception of risk by a marine fish. *Biol Letters* 7: 811–813. doi: 10.1098/rsbl.2011.0645
- Lima S. L. (2002) Putting predators back into behavioral predator–prey interactions. – *Trends Ecol Evol* 17: 70–75. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02393-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02393-X)

- Lima SL (1998) Nonlethal effects in the ecology of predator-prey interactions. *Bioscience* 48: 25–34. doi: 10.2307/1313225
- Loreau M, Naeem S, Inchausti P, Bengtsson J, Grime JP, Hector A, Hooper DU, Huston MA, Raffaelli D, Schmid B, Tilman D, Wardle DA (2001) Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science* 294: 804–808. doi: 10.1126/science.1064088
- Lowe-McConnell RH. (1987) *Ecological Studies in Tropical Fish Communities*. Cambridge University Press, Cambridge
- Macreadie P, Geraldini NR, Peterson CH (2012) Preference for feeding at habitat edges declines among juvenile blue crabs as oyster reef patchiness increases and predation risk grows. *Mar Ecol Prog Ser* 466: 145–153. doi:10.3354/meps09986.
- Meerhoff M, Fosalba C, Bruzzone C, Mazzeo N, Noordoven W, Jeppesen E (2006) An experimental study of habitat choice by *Daphnia*: plants signal danger more than refuge in subtropical lakes. *Freshw Biol* 51: 1320–1330. doi: 10.1111/j.1365-2427.2006.01574.x.
- Meerhoff M, Iglesias C, Teixeira de Mello F, Clemente JM, Jensen E, Lauridsen TL, Jeppesen E (2007) Effects of habitat complexity on community structure and predator avoidance behaviour of littoral zooplankton in temperate versus subtropical shallow lakes. *Freshw Biol* 52: 1009–1021. doi: 10.1111/j.1365-2427.2007.01748.x
- Montenegro AKA, Vieira ACB, Cardoso MML, Souza JERT, Crispim MC (2013) Piscivory by *Hoplias* aff. *malabaricus* (Bloch, 1794): A question of prey availability? *Acta Limnol Bras* 25: 68–78. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S2179-975X2013000100008>
- Pace ML, Cole JJ, Carpenter SR, Kitchell JF (1999) Trophic cascades revealed in diverse ecosystems. *Trends Ecol Evol* 14: 483–488. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01723-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01723-1)
- Padial AA, Thomaz SM, Agostinho AA (2009) Effects of structural heterogeneity provided by the floating macrophyte *Eichhornia azurea* on the predation efficiency and habitat use of the small Neotropical fish *Moenkhausia sanctaefilomena*. *Hydrobiologia* 624: 161–170. doi: 10.1007/s10750-008-9690-8
- Pangle KL, Malinich TD, Bunnell DB, Devries DR, Ludsin SA. (2012) Context-dependent planktivory: interacting effects of turbidity and predation risk on adaptive foraging. *Ecosphere* 3: art114. doi: <http://dx.doi.org/10.1890/ES12-00224.1>
- Peckarsky BL, McIntosh AR (1998) Fitness and community consequences of avoiding multiple predators. *Oecologia* 113: 565–576. doi: 10.1007/s004420050410
- Peretti D, Andrian IF (2008) Feeding and morphological analysis of the digestive tract of four species of fish (*Astyanax altiparanae*, *Parauchenipterus galeatus*, *Serrasalmus marginatus* and *Hoplias* aff. *malabaricus*) from the upper Paraná River floodplain, Brazil. *Braz J Biol* 68: 671–679. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842008000300027>
- Persson L, Eklöv P. (1995) Prey refuges affecting interactions between piscivorous perch and juvenile perch and roach. *Ecology* 76: 70–81. doi: <http://dx.doi.org/10.2307/1940632>
- Petry AC, Gomes LC, Piana PA, Agostinho AA (2010) The role of the predatory trahira (Pisces: Erythrinidae) in structuring fish assemblages in lakes of a Neotropical floodplain. *Hydrobiologia* 651: 115–126. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S2179-975X2013000100008>
- Romare P, ansson LA (2003) A behavioral cascade: Top-predator induced behavioral shifts in planktivorous fish and zooplankton. *Limnol Oceanogr* 48: 1956–1964. doi: 10.4319/lo.2003.48.5.1956
- Sazima I (1986) Similarities in feeding behaviour between some marine and freshwater fishes in two tropical communities. *J Fish Biol* 29: 53–65. doi: 10.1111/j.1095-8649.1986.tb04926.x

- Schmitz OJ (2007) Predator diversity and trophic interactions. *Ecology* 88: 2415–2426. doi: <http://dx.doi.org/10.1890/06-0937.1>
- Schmitz OJ, Kriva V, Ovadial O (2004) Trophic cascades: the primacy of trait-mediated indirect interactions. *Ecol Lett* 7: 153–163. doi: 10.1111/j.1461-0248.2003.00560.x
- Tavşanoğlu ÜN, Cakiroğlu AI, Erdoğan Ş, Meerhoff M, Jeppesen E, Beklioglu, M (2012) Sediments, not plants, offer the preferred refuge for *Daphnia* against fish predation in Mediterranean shallow lakes: an experimental demonstration. *Freshw Biol* 57: 795–802.
- Thomaz SM, Dibble ED, Evangelista LR, Higuiri J, Bini LM (2008). Influence of aquatic macrophyte habitat complexity on invertebrate abundance and richness in tropical lagoons. *Freshw Biol* 53: 358–367. doi:10.1111/j.1365-2427.2007.01898.x
- Werner EE, Peacor SD (2006) Lethal and nonlethal predator effects on an herbivore guild mediated by system productivity. *Ecology* 87: 347-361. doi: <http://dx.doi.org/10.1890/05-0091>

3 RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE PEIXES PRESAS A PRESENÇA DE PISCÍVOROS E AO AUMENTO DA TURBIDEZ DA ÁGUA

RESUMO

As estratégias de caça de predadores são características fundamentais na interação predador-presa. Considerando que cardumes de peixes presas apresentam diferentes comportamentos na presença de piscívoros com estratégias senta-e-espera ou daqueles de perseguição ativa, este trabalho objetivou investigar se essas ameaças também acarretam diferentes intensidades quanto aos níveis plasmáticos de cortisol e glicose. Adicionalmente, foi avaliado se a redução na visibilidade subaquática de ambientes túrbidos pode afetar essa interação. Para tanto, foi realizado um experimento em mesocosmo no qual testou-se as hipóteses de que (i) os níveis plasmáticos de glicose e cortisol diferem de acordo com as estratégias de predação por piscívoros, e (ii) em águas de maior turbidez há redução nos níveis plasmáticos de cortisol e glicose plasmáticos. Verificou-se que a presença de peixes piscívoros causou aumento nos níveis plasmáticos de cortisol nas presas, entretanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos com piscívoros de diferentes estratégias de predação. Por outro lado, nenhuma alteração significativa foi observada quanto aos níveis plasmáticos de glicose, assim como nenhuma alteração foi observada entre tratamentos de água clara e turbida. Dessa forma, conclui-se que as alterações fisiológicas causadas por diferentes predadores podem estar relacionadas com a capacidade das presas em reconhecer e avaliar o perigo, independentemente da estratégia de caça desempenhada pelo piscívoro, permitindo que as presas minimizem suas respostas fisiológicas a fim de manter o máximo de seu estado normal ou homeostático.

Palavras-chave: Comportamento antipredação; *Hoplias* aff. *malabaricus*; *Astronotus crassipinnis*; *Astyanax bimaculatus*; ameaça de predação.

3.1 INTRODUÇÃO

A predação é uma importante força moduladora em populações de presas e proporciona estabilidade às comunidades de peixes (Lima e Dill 1990; Link e Garrison 2002; Moustahfid 2010). Entretanto, além do efeito direto da predação, efeitos indiretos podem ocorrer resultantes dos comportamentos que as presas empregam para reduzir os riscos de mortalidade, após a detecção de um potencial predador (Lima 1998; Werner e Peacor 2006; Hoeinghaus e Pelicice 2010). Dessa forma, as presas evitam a predação e a probabilidade de sobrevivência é aumentada (Lima 1998; Lima 2002; Werner e Peacor 2006). As respostas comportamentais de antipredação mais comuns em peixes consistem em reduzir a atividade de natação, permanecer em um estado vigilante e aumentar o tempo gasto em refúgios (Kovalenko et al. 2010; Hoeinghaus e Pelicice 2010; Ajemian et al. 2015). Entretanto, além de alterações comportamentais, mudanças fisiológicas como alterações nos níveis plasmáticos de cortisol e glicose também podem ser detectadas em peixes após passarem por algum tipo de estresse, tal como o encontro com predadores (Bell et al. 2007).

Para detectar alterações fisiológicas causadas pelo estresse, os níveis plasmáticos de cortisol e glicose são indicadores bastantes eficientes utilizados em peixes (Martínez-Porchas et al. 2009), podendo ser classificados como respostas primárias e secundárias, respectivamente (Barton 2002). A resposta primária é causada por mudanças neuroendócrinas, ativada pelo sistema nervoso autônomo simpático liberando catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) do tecido cromafim no plasma sanguíneo. Como parte da resposta primária, o eixo hipotálamo-hipófise-interrenal é ativado e leva ao aumento dos níveis plasmáticos de glicocorticoides como o cortisol. Se o estresse persistir, a resposta secundária pode ser desencadeada, sendo associada a alterações metabólicas, tais como o aumento dos níveis de glicose no plasma, ácido láctico, respiração, equilíbrio hidromineral, entre outras (Reid et al. 1998; Barton e Iwama 1991; Barton 2002). Se as respostas primárias e secundárias persistirem ainda podem ocorrer respostas terciárias, associadas a efeitos deletérios, incluindo mudança no crescimento, redução da atividade ou eficiência do sistema imunológico (imunossupressão) e inibição da reprodução (Barton 2002).

Entre os estudos dedicados a analisar alterações fisiológicas causadas pelo estresse em peixes, destaca-se em maior quantidade os que utilizam espécies de interesse econômico, tais como a tilápia do nilo – *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758 (Barreto e Volpato 2006; Sanches et al. 2015), truta – *Salmo trutta* Linnaeus, 1758 (Ruane et al. 1999; Flodmark et al. 2002), matrinxã – *Brycon amazonicus* Günther, 1869 (Hoshiba et al. 2009; Bendhack e Urbinati 2009) e jundiá – *Rhamdia quelen* Quoy e Gaimard, 1824 (Barcellos et al. 2001;

Koakoski et al. 2012). Os estressores mais avaliados estão associados com a captura, transporte e alterações de temperatura (Martínez-Porchas et al. 2009), sendo mais raros os estudos que dedicam-se a investigar as mudanças fisiológicas causadas por relações ecológicas, como a ameaça de predação sobre presas.

Quando peixes desempenham o comportamento de antipredação após a percepção de uma possível ameaça, o estresse causado pode refletir em aumento nos níveis plasmáticos de cortisol e glicose (Rehnberg et al. 1987; Martínez-Porchas et al. 2009). Entretanto, o comportamento de antipredação pode ocorrer diferentemente de acordo com a estratégia de predação do piscívoro, que influencia a presa quanto à utilização do habitat (Peckarsky e McIntosh 1998; Guariento et al. 2014) e no tipo de recurso alimentar adquirido (Eklöv e VanKooten 2001). Dessa forma, espera-se que os níveis plasmáticos de cortisol e glicose se apresentem diferentes intensidades de acordo com o tipo de estresse causado pelas estratégias de caça dos predadores.

Muitas espécies de peixes utilizam a visão para detectar ameaças de predação próximas (Ferrari et al. 2010; Kovalenko et al. 2010; Becker e Gabor 2012). Entretanto, ambientes aquáticos frequentemente apresentam alta turbidez, e conseqüentemente, baixa visibilidade subaquática (De Robertis et al. 2003). Então, pode-se afirmar que a turbidez promove um refúgio visual para presas, por torna-las menos perceptíveis a predadores e reduzir o risco de predação (Ranåker et al. 2012; Figueiredo et al. 2016). A turbidez é uma condição ambiental que provavelmente será intensificada devido às mudanças climáticas (Thenberth et al. 2007; Thompson et al. 2013). Por outro lado, ambientes oligotróficos com águas transparentes são realidades em rios impactados pela construção de reservatórios em cascata, através da retenção de nutrientes e sólidos suspensos (Roberto et al. 2009). Dessa forma, as condições de visibilidade subaquática podem ser importantes mediadoras da interação predador-presa.

Nesse estudo foram investigadas experimentalmente as respostas fisiológicas de cardumes de *Astyanax bimaculatus* para a presença de peixes piscívoros com distintas táticas alimentares: senta-e-espera (*Hoplias* aff. *malabaricus*) e perseguição ativa (*Astronotus crassipinnis*). Além disso, avaliou-se o papel da condição de visibilidade subaquática para a interação entre predadores e presas. No experimento, testaram-se as hipóteses de que (i) os níveis plasmáticos de glicose e cortisol diferem de acordo com as estratégias de caça de piscívoros, e (ii) em ambiente turbido haverá redução nos níveis plasmáticos de glicose e cortisol devido a inabilidade das presas em reconhecerem com precisão seus predadores por sinais não-visuais.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Delineamento experimental

Os experimentos foram conduzidos em aquários retangulares (volume total ~ 35 l; largura = 25 cm; comprimento = 45 cm; altura = 35 cm) com o intuito de investigar os níveis plasmáticos de glicose e cortisol de um cardume de peixes-presa (*Astyanax bimaculatus* Linnaeus, 1758 - Comprimento Total (CT) 5.0 ± 0.54 cm), na presença e na ausência de piscívoros com estratégia de caça senta-e-espera (*Hoplias aff. malabaricus* Bloch, 1794 - CT 18.2 ± 0.65 cm) ou perseguição ativa (*Astronotus crassipinnis* Heckel, 1840 - CT 17.6 ± 3.90 cm), combinados em tratamentos de água clara e turbida. Assim, o desenho experimental consistiu em seis tratamentos replicados seis vezes: (1) sem predador em água clara = SPAC; (2) com *H. aff. malabaricus* em água clara = HMAC; (3) com *A. crassipinnis* em água clara = ACAC; (4) Sem predador em água turbida = SPAT; (5) com *H. aff. malabaricus* em água turbida = HMAT; (6) com *A. crassipinnis* em água turbida = ACAT (Fig. 1).

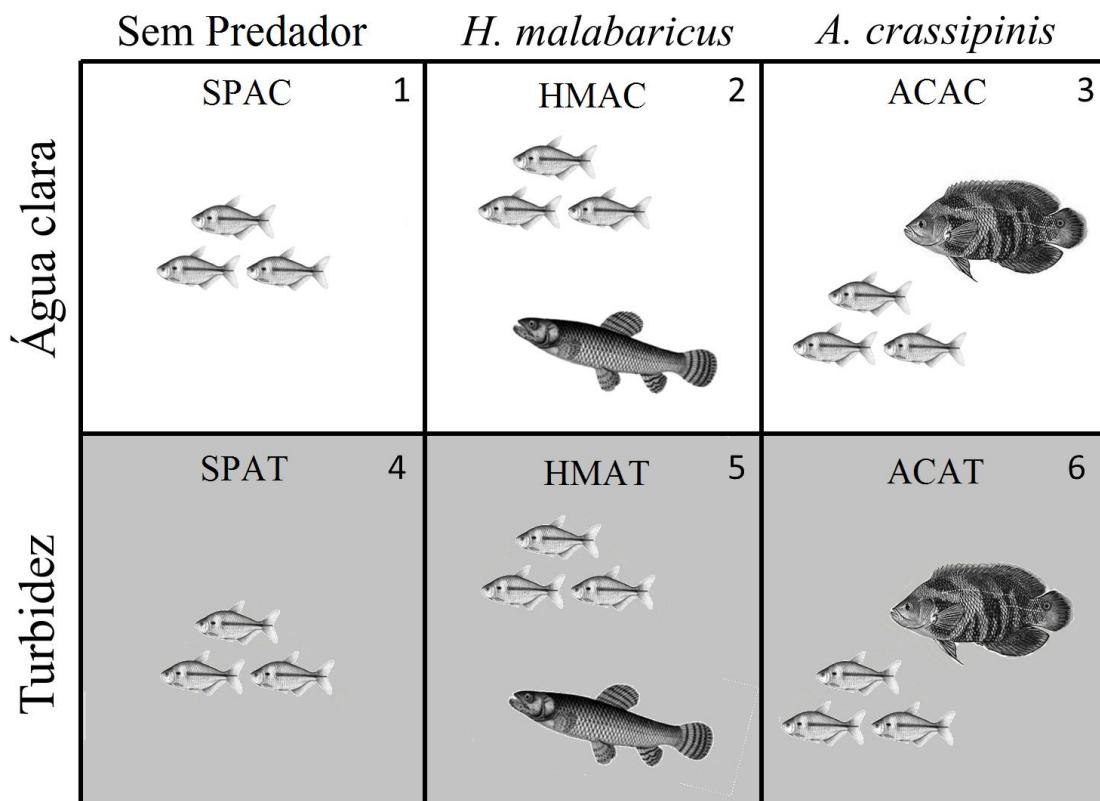


Fig. 1 Ilustração do desenho experimental realizado, evidenciado todos os tratamentos: (1) sem predador em água clara = SPAC; (2) com *H. aff. malabaricus* em água clara = HMAC; (3) com *A. crassipinnis* em água clara = ACAC; (4) Sem predador em água turbida = SPAT; (5) com *H. aff. malabaricus* em água turbida = HMAT; (6) com *A. crassipinnis* em água turbida = ACAT.

O piscívoro *H. aff. malabaricus*, popularmente conhecido como traíra, é nativo e habita principalmente lagoas, sendo considerada uma espécie-chave na planície alagável do alto rio Paraná (Petry et al. 2010). Sua estratégia de caça é classificada como senta-e-espera, capturando suas presas por emboscada (Montenegro et al. 2013). Por outro lado, *A. crassipinnis*, popularmente conhecido como oscar, provavelmente foi introduzida por aquarofilistas em aproximadamente 2000 ambientes conectados a planície alagável do Alto rio Paraná (Abujanra et al. 2009; Horácio-Junior et al. 2009). Entretanto, apesar de abundante, ainda não há registros de danos ambientais causados por sua invasão. Observações em mesocosmos permitem afirmar que sua estratégia de caça pode ser classificada como perseguição ativa. Como presa foi escolhido uma espécie de pequeno porte de *Astyanax*, popularmente conhecidos como lambari, diverso e muito abundante em regiões neotropicais, sendo importante item na dieta de piscívoros, tal como *H. aff. malabaricus* (Gealh e Hahn 1998; Hahn et al. 2004).

3.2.2 Amostragem

Os piscívoros foram coletados em setembro de 2015 por meio de pesca, em ambientes aquáticos conectados ao rio Paraná. As presas (*A. bimaculatus*) foram adquiridas em piscicultura. Levando em consideração que as presas não conviviam com qualquer predador, e que poderiam requerer aprendizagem para reconhecer e desenvolver comportamento de antipredação perante os predadores coletados (Lima e Dill 1990; Brown 2003; Ferrari et al. 2008), foi proporcionado um período de reconhecimento aos predadores. O período de reconhecimento consistiu em manter o cardume de 450 exemplares de *A. bimaculatus* (jovens) junto a um *H. malabaricus* e a um *A. crassipinnis*, em tanque de 1000 litros, durante 24 horas. Nesse período, 14 *A. bimaculatus* foram predados, totalizando cerca de 3% do cardume inicial. Após esse período as presas foram transferidas para as unidades experimentais contendo água dechlorada (temperatura ~ 25 °C; turbidez ~ 2 NTU), onde permaneceram em cardumes de 12 indivíduos por 48 horas para aclimação às condições experimentais, sendo alimentadas duas vezes ao dia. Os tratamentos com água turbida receberam 60 gramas de argila, que gerou turbidez média de 120 NTU. Nessa condição de turbidez, a profundidade máxima de alcance da luz foi de 7 cm (estimado por disco de Secchi).

Após o período de aclimação observou-se que ocorria sedimentação da argila, acarretando diminuição da turbidez. Dessa forma, foi necessário adicionar aos tratamentos de água turbida 60 gramas de argila diluídas em 200 ml de água, minutos antes ao início da

experimentação, elevando novamente a turbidez para cerca de 120 NTU. Os tratamentos de água clara receberam a mesma quantidade de água (mas sem argila), com objetivo de padronizar o distúrbio causado pela inserção de água no aquário. Os piscívoros foram alimentados antes do experimento para que não houvesse predação. As presas foram alimentadas até 12h antes do experimento, para evitar que a ingestão de alimento afetasse o metabolismo dos indivíduos.

O experimento teve início com a introdução dos piscívoros, tendo duração de uma hora. Após esse período os piscívoros foram removidos das unidades experimentais. As presas foram retiradas com auxílio de uma rede e colocadas em um recipiente contendo solução de água com benzocaína (80 mg/L). Após anestesiados (Gontijo et al. 2003; Sanches et al. 2015), o sangue foi amostrado dos peixes através do corte do pedúnculo caudal, com auxílio de tubo capilar com heparina. O sangue dos indivíduos foi agrupado por unidade experimental, a fim de analisar as respostas fisiológicas do cardume. Em seguida o sangue foi centrifugado (3000 rpm por 10 minutos), e o plasma coletado foi transferido para tubos com tampa e congelado até serem requeridos para análises. Os níveis plasmáticos de cortisol foram determinados com kit comercial de ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay kit - cortisol test*), conforme procedimentos validados para peixes (Sink et al. 2008; Barcellos et al. 2010). Três amostras de cortisol (1 do tratamento: água clara sem predador; 2 do tratamento: água turbida sem predador) foram retiradas do conjunto de dados uma vez que a concentração de cortisol foi muito superior ao intervalo da curva padrão determinado pelo kit ELISA. Os níveis plasmáticos de glicose foram avaliados pelo método colorimétrico de Trinder (1969). Todas as análises foram conduzidas em duplicatas.

3.2.3 Análise dos dados

Para testar as hipóteses foi realizada análise de variância *two way* (ANOVA) para os dados de glicose, e análises de variâncias não paramétricas de *Kruskal-Wallis* e *Mann-Whitney* para os dados de cortisol, uma vez que esses dados não atingiram os pressupostos de normalidade e homocedasticidade. Os níveis plasmáticos de cortisol e glicose foram utilizados como variáveis respostas, enquanto a presença ou ausência de predadores, assim como as condições de água clara e turbida foram consideradas como variáveis independentes. Os testes foram conduzidos no *software Statistica 7.1®* (Statsoft, 2005), considerando-se $p < 0,05$ como nível de significância.

3.3 RESULTADOS

Ao deparar-se com peixes piscívoros, independente de suas estratégias de caça, o cardume de presas apresentou aumento médio de 90% nos níveis plasmáticos de cortisol, passando de em média 28,2 ng/mL na ausência de predadores para 51,2 ng/mL quando predadores estavam presentes. Dessa forma, a presença de peixes piscívoros em ambiente de água clara, promoveu aumento significativo nos níveis de cortisol plasmático em *A. bimaculatus* (Teste de *Kruskal Wallis*: $H_{2,17} = 10,50$; $p < 0,05$). A mesma relação foi observada nos tratamentos com água turbida ($H_{2,16} = 9,01$; $p < 0,05$). Os níveis de cortisol não foram estatisticamente diferentes entre os tratamentos de água clara e turbida (Teste de *Mann Whitney* - Sem predador: $U_{1,9} = 4,0$; $p = 0,14$ - *H. aff malabaricus*: $U_{1,12} = 13,0$; $p = 0,42$ - *A. crassipinnis*: $U_{1,12} = 16,0$; $p = 0,75$); (Fig. 2).

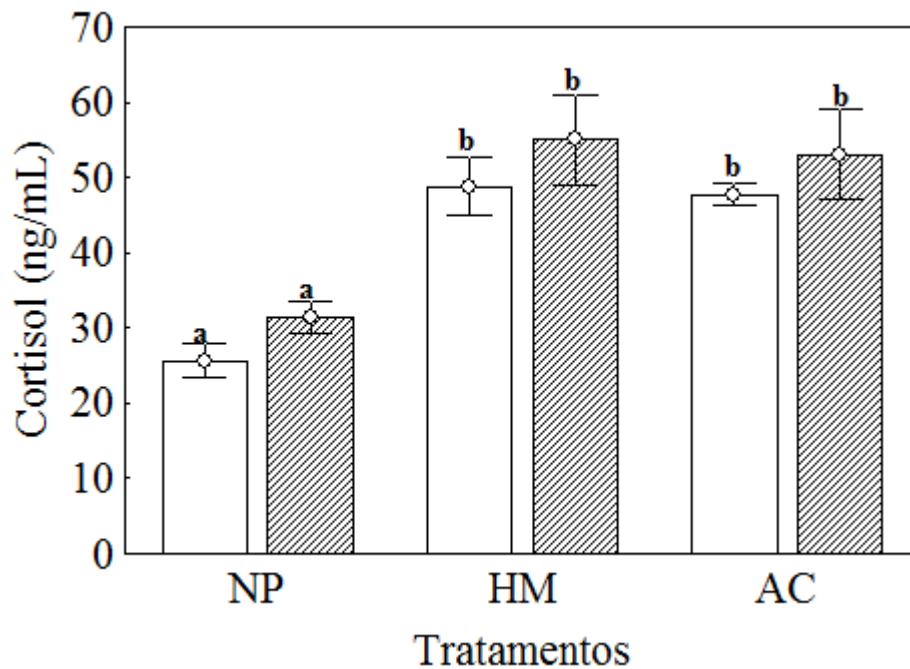


Fig. 2 Média e erro padrão (n=6) dos níveis de cortisol plasmático de um cardume de *A. bimaculatus*, em tratamentos com água clara (caixa branca), e em tratamentos com água turbida (caixa listrada). NP = nenhum predador, HM = *Hoplias aff. malabaricus*, AC = *Astronotus crassipinnis*. Letras iguais acima das barras indicam que não há diferença significativa ($P < 0,05$) no teste de *Kruskal Wallis* entre os tipos de predadores e de *Mann Whitney* entre os tratamentos de água clara e água turbida com cada tipo de predador.

Os níveis plasmáticos de glicose de *A. bimaculatus* não sofreram alterações significativas na presença de predadores ($F_{2,36} = 0,26$; $p = 0,77$), ou em resposta as diferentes condições de turbidez da água ($F_{1,36} = 1,24$; $p = 0,27$). A média nos níveis de glicose foi de 34,6 mg/dL em tratamentos de água clara e 30,33 mg/dL em tratamentos túrbidos (Fig. 3).

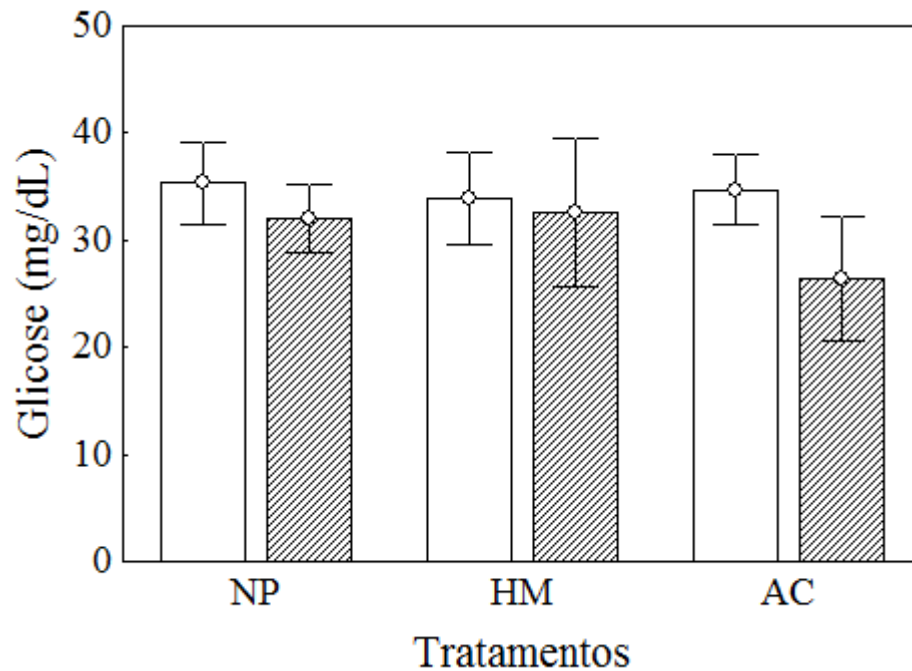


Fig. 3 Média e erro padrão dos níveis de glicose plasmática de *A. bimaculatus*, em tratamentos com água clara (caixa branca), e em tratamentos com água turbida (caixa listrada). NP = Nenhum predador, HM = *Hoplias aff. malabaricus*, AC = *Astronotus crassipinnis*.

3.4 DISCUSSÃO

Quando cardumes de presas foram confrontadas com peixes piscívoros, evidenciou-se aumento nos níveis plasmáticos de cortisol. Essa alteração endócrina ocorreu em condições de água clara e também em condições de turbidez, indicando que *A. bimaculatus* respondeu fisiologicamente à presença dos predadores independente do comportamento dos mesmos ou das condições de visibilidade subaquática. Entretanto, nenhuma alteração significativa nos níveis de glicose foi registrada. Considerando que os níveis de cortisol indicam respostas primárias ao estresse, enquanto os níveis de glicose indicam respostas secundárias (Barton 2002), percebe-se que o estresse sofrido pelas presas desencadeou apenas efeitos primários. Esses resultados podem estar relacionados à intensidade da ameaça durante o período experimental, uma vez que não houve qualquer subtração de presas através de predação durante o experimento, e possivelmente qualquer tentativa de ataque.

A ausência de alterações nos níveis plasmáticos de glicose (efeito secundário) indica que o estresse sofrido pelas presas não foi forte suficiente para desencadear essa resposta metabólica durante o tempo avaliado no experimento. Entretanto, evidências de efeitos primários e ausência de efeitos secundários também são observadas em tilapia do nilo (*O. niloticus*) ao longo de um tempo quatro vezes mais do que o decorrido nesse experimento

(Sanchez et al. 2015). Dessa forma, é provável que a ausência de alterações nos níveis de glicose seja resultante da capacidade da presa em avaliar o perigo, proporcionando aprendizagem acerca da ameaça de predação. A aprendizagem das presas ocorre especialmente se elas têm vivenciado situações semelhantes que não tenham provocado lesões (Lima e Dill 1990; Barcellos et al. 2010). Outra espécie, o paulistinha (*Danio rerio*), apresenta aumento nos níveis de cortisol ao ser confrontado com predadores, entretanto mostra-se capaz de aprender sobre essa situação de perigo, ao não apresentar níveis elevados de cortisol após contato visual prolongado com o peixe piscívoro (Barcellos et al. 2007; Barcellos et al. 2010). Assim como, guppies (*Poecilia reticulata*) apresentam menor nível de cortisol quando criados com pistas químicas desse predador (Fischer 2014). Logo, pode-se considerar a existência de um mecanismo adaptativo, que permita ao peixe avaliar estressores reais ou percebidos a fim de manter o máximo do seu estado metabólico normal.

O piscívoro *H. aff. malabaricus* permanece imóvel na maior parte do tempo, fazendo com que o cardume de *A. bimaculatus* permaneça no lado oposto do aquário em estado de vigilância, e imóvel na maioria do tempo (Figueiredo et al. 2016). Por outro lado, *A. crassipinnis* locomove-se frequentemente por todo o aquário, forçando o cardume de presas a nadar sempre no sentido oposto, evitando-os. Entretanto, mesmo que os piscívoros com estratégia senta-e-espera e perseguição ativa ocasionem diferentes respostas comportamentais em peixes presas (Peckarsky e McIntosh 1998; Guariento et al. 2014), tais mudanças de comportamento não causaram diferentes alterações metabólicas nas presas. Resultados parecidos foram registrados para *Poecilia reticulata* (Kolluru et al. 2015) e *Brachyrhaphis episcopi* (Archard et al. 2012) por também não evidenciarem qualquer relação entre a liberação de hormônios e o comportamento. Os resultados deste estudo indicam que *A. bimaculatus* responde fisiologicamente de forma similar à presença de ambos os tipos predadores, mesmo que sejam forçados a desempenhar diferentes comportamentos perante as diferentes ameaças.

Os níveis plasmáticos de cortisol e glicose do cardume de *A. bimaculatus* foram semelhantes em águas claras e túrbidas. Tais resultados evidenciam a capacidade da presa em reconhecer um potencial predador através de sinais não-visuais (Barbosa e Castellanos 2005). Portanto, a turbidez confere um refúgio visual às presas (Ranåker et al. 2012, Figueiredo et al. 2016) e parece não interferir na capacidade de reconhecer possíveis predadores através de sentidos não-visuais, como por exemplo sinais químicos. Em guppies os níveis de cortisol também não diferem entre baixa e alta luminosidade em populações com ameaça de predação (Kolluru et al. 2015).

Dessa forma, evidencia-se que as alterações fisiológicas causadas por diferentes predadores podem estar mais relacionadas com a capacidade das presas em reconhecer e avaliar o perigo do que com os distintos comportamentos antipredação decorrentes dos tipos de estratégias de caça de piscívoros, ou das condições de turbidez do ambiente. Essa capacidade de perceber o ambiente através de sinais não visuais permite as presas minimizarem os efeitos não letais da predação, refletidos nesse estudo através da ausência de alterações fisiológicas secundárias, proporcionando as presas o máximo de seu estado normal ou homeostático ao deparar-se com possíveis predadores.

REFERÊNCIAS

- Åbjörnsson K, Wagner BMA, Axelsson A, Bjerselius R, Olsén KH (1997) Responses of *Acilius sulcatus* (Coleoptera: Dytiscidae) to chemical cues from perch (*Perca fluviatilis*). *Oecol* 111: 166–171. doi: 10.1007/s004420050221
- Ajemian MJ, Sohel S, Mattila J (2015) Effects of turbidity and habitat complexity on antipredator behavior of three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Environ Biol Fish* 98:45–55. doi: 10.1007/s10641-014-0235-x
- Archard GA, Earley RL, Hanninen AF, Braithwaite VA (2012) Correlated behaviour and stress physiology in fish exposed to different levels of predation pressure. *Funct Ecol* 26: 637–645. doi: 10.1111/j.1365-2435.2012.01968.x
- Barbosa P, Castellanos I (2005) Ecology of Predator-Prey Interactions. Oxford: Oxford Univ Press pp. 36-40.
- Barcellos LJJ, Marqueze A, Trapp M, Quevedo RM, Ferreira D (2010) The effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult jundia *Rhamdia quelen*. *Aquaculture* 300: 231-236. doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.01.013
- Barcellos LJJ, Ritter F, Kreutz LC, Quevedo RM, Silva LB, Bedin AC, Finco J, Cericato L (2007) Whole-body cortisol increases after direct and visual contact with a predator in zebrafish, *Danio rerio*. *Aquaculture* 272: 774–778. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.09.002
- Barcellos LJJ, Woehl VM, Wassermann GF, Quevedo RM, Itzès I, Krieger MH (2001) Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy e Gaimard), a South American catfish. *Aquac Res* 32: 121-123. doi: 10.1046/j.1365-2109.2001.00539.x
- Barreto RE, Volpato GL (2006) Stress responses of the fish Nile tilapia subjected to electroshock and social stressors. *Braz J Med Biol Res* 39(12): 1605-1612. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2006001200012>
- Barton BA (2002) Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. *Int and Comp Bio* 42 (3): 517-525. doi: 10.1093/icb/42.3.517

- Barton BA, Iwama GK (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Rev of Fish Diseases* 1: 3-26. doi: 10.1016/0959-8030(91)90019-G
- Becker LJS, Gabor CR (2012) Effects of Turbidity and Visual vs. Chemical Cues on Anti-Predator Response in the Endangered Fountain Darter (*Etheostoma fonticola*). *Ethology* 118: 994–1000. doi: 10.1111/eth.12002
- Bell AM, Backström T, Huntingford AF, Pottinger TG, Winberg S (2007). Variable neuroendocrine responses to ecologically-relevant challenges in sticklebacks. *Physiol and Behav* 91, 15–25. doi:10.1016/j.physbeh.2007.01.012
- Bendhack F, Urbinati EC (2009) Mitigating stress effects during transportation of matrinxã (*Brycon amazonicus* Günther, 1869; Characidae) through the application of calcium sulfate. *J Appl Ichthyol* 25(2): 201-205. doi: 10.1111/j.1439-0426.2008.01208.x
- Brown GE (2003) Learning about danger: chemical alarm cues and local risk assessment in prey fishes. *Fish Fish* 4 (3): 227–234. doi: 10.1046/j.1467-2979.2003.00132.x
- De Robertis A, Ryer CH, Veloza A, Brodeur RD (2003) Differential effects of turbidity on prey consumption of piscivorous and planktivorous fish. *Can J Fish Aquat Sci* 60: 1517-1526. doi: 10.1139/F03-123
- Eklöv P, Vankooten T (2001) Facilitation among piscivorous predators: effects of prey habitat use. *Ecology* 82: 2486–2494. doi:10.1890/0012-9658
- Ferrari MCO, Lysak KR, Chivers DP (2010) Turbidity as an ecological constraint on learned predator recognition and generalization in a prey fish. *Animal Behaviour* 79: 515–519. doi:10.1016/j.anbehav.2009.12.006
- Ferrari MCO, Messier F, Chivers DP (2008) Can prey exhibit threat-sensitive generalization of predator recognition? Extending the Predator Recognition Continuum Hypothesis. *Proc. R. Soc. B* 275: 1811–1816. doi: 10.1098/rspb.2008.0305
- Figueiredo BRS, Mormul RP, Chapman BB, Lolis LA, Fiori LF, Benedito E (2016) Turbidity amplifies the non-lethal effects of predation and affects the foraging success of characidn fish shoals. *Freshwater Biol.* doi: 10.1111/fwb.12703
- Fischer EK, Harris RM, Hofmann HA, Hoke KL (2014) Predator exposure alters stress physiology in guppies across timescales. *Horm Behav* 65 (2014) 165–172. doi: 10.1016/j.yhbeh.2013.12.010.
- Flodmark LEW, Urke HA, Halleraker JH, Arnekleiv JV, Vøllestad LA, Poléo ABS (2002) Cortisol and glucose responses in juvenile brown trout subjected to a fluctuating flow regime in an artificial stream. *J Fish Biol* 60: 238-248. doi: 10.1111/j.1095-8649.2002.tb02401.x
- Gealh AM, Hahn NS (1998) Alimentação de *Oligosarcus longirostris* Menezes e Gèry (Osteichthyes, Acestrorhynchinae) do reservatório de Salto Segredo, Paraná, Brasil. *Rev. Bras. Zool.* 15 (4) 985-993. doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81751998000400017
- Gontijo AMMC, Barreto RE, Speit G, Reyes VAVR, Volpato GL, Salvadori DMF (2003) Anesthesia of fish with benzocaine does not interfere with comet assay results. *Mutat. Res.* (534) 165–172, http://dx.doi.org/10.1016/S1383-5718(02)00276-0
- Guariento RD, Luttbeg B, Mehner T, Esteves FA (2014) The effect of predation pressure and predator adaptive foraging on the relative importance of consumptive and non-

- consumptive predator net effects in a freshwater model system. *Oikos* 123: 705–713. doi: 10.1111/j.1600-0706.2013.01201.x
- Hahn NS, Fugi R, Andrian IF (2004) Trophic ecology of the fish assemblages. In Thomaz SM, Agostinho AA, Hahn NS (eds) *The Upper Paraná River and its Floodplain: Physical Aspects, Ecology and Conservation*. Leiden: Backhuys Publishers 247– 269 pp.
- Hoeinghaus DJ, Pelicice FM (2010) Lethal and nonlethal effects of predators on stream fish species and assemblages: A synthesis of predation experiments. In Gido KB, Jackson DA. (eds) *Community ecology of stream fishes: concepts, approaches, and techniques*. American Fisheries Society, Bethesda 73: 619–648 pp.
- Horácio Jr. HFJ, Tós CD, Agostinho AA, Pavanelli CS (2009) A massive invasion of fish species after eliminating a natural barrier in the upper rio Paraná basin. *Neotrop Ichthyol* 7: 709-718. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1679-62252009000400021>
- Hoshiba MA, Gonçalves FD, Urbinati EC (2009) Respostas fisiológicas de estresse no matrinxã (*Brycon amazonicus*) após exercício físico intenso durante a captura. *Acta Amazonica* 39(2): 445 – 452. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672009000200025>
- Koakoski G, Oliveira TA, Rosa JGS, Fagundes M, Kreutz LC, Barcellos LJG (2012) Divergent time course of cortisol response to stress in fish of different ages. *Physiol Behavior* 106: 129–132. doi: 10.1016/j.physbeh.2012.01.013
- Kolluru GR, Walz J, Hanninen AF, Downey K, Kalbach B, Gupta S, Earley RL (2015) Exploring behavioral and hormonal flexibility across light environments in guppies from low-predation populations. *Behaviour* 152: 963–993. Doi: 10.1163/1568539X-00003264
- Kovalenko KE, Dibble ED, Agostinho AA, Pelicice FM (2010) Recognition of non-native peacock bass, *Cichla kelberi* by native prey: testing the naiveté hypothesis. *Biol Invasions* 12: 3071–3080. doi: 10.1007/s10530-010-9698-7
- Lima SL (2002) Putting predators back into behavioral predator–prey interactions. *Trends Ecol Evol* 17: 70–75. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02393-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02393-X)
- Lima SL (1998) Nonlethal effects in the ecology of predator-prey interactions. *Bioscience* 48: 25–34. doi: 10.2307/1313225
- Lima SL, Dill LM (1990) Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Can J Zool* 68(4): 619-640 doi: 10.1139/z90-092
- Link JS, Garrison LP (2002) Changes in piscivory associated with fishing induced changes to the finfish community on Georges Bank. *Fish Res* 55:71–86. doi: 10.1016/S0165-7836(01)00300-9
- Martínez-Porchas M, Martínez-Córdova LR, Ramos-Enriquez R (2009) Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 4(2): 158-178.
- Montenegro AKA, Vieira ACB, Cardoso MML, Souza JERT, Crispim MC (2013) Piscivory by *Hoplias* aff. *malabaricus* (Bloch, 1794): A question of prey availability? *Acta Limnol Bras* 25: 68-78. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S2179-975X2013000100008>
- Moustahfid H, Tyrrell MC, Link JS, Nye JA, Smith BE, Gamble RJ (2010) Functional feeding responses of piscivorous fishes from the northeast US continental shelf. *Oecologia* 163:1059–1067. doi:10.1007/s00442-010-1596-2.

- Peckarsky BL, Mcintosh AR (1998) Fitness and community consequences of avoiding multiple predators. *Oecologia* 113: 565–576. doi: 10.1007/s004420050410
- Petry AC, Gomes LC, Piana PA, Agostinho AA (2010) The role of the predatory trahira (Pisces: Erythrinidae) in structuring fish assemblages in lakes of a Neotropical floodplain. *Hydrobiologia* 651: 115–126. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S2179-975X2013000100008>
- Ranåker L, Nilsson PA, Brönmark C (2012) Effects of Degraded Optical Conditions on Behavioural Responses to Alarm Cues in a Freshwater Fish. *Plos One* 7(6): e38411. doi:10.1371/journal.pone.0038411
- Rehnberg BG, Smith RJF, Sloley BD (1987) The reaction of pearl dace (Pisces, Cyprinidae) to alarm substance: time-course of behavior, brain amines, and stress physiology, *Can J Zool* (65) 2916-2921. doi: <http://dx.doi.org/10.1139/z87-442>
- Reid SG, Bernie NJ, Perry SF (1998) The adrenergic stress response in fish: Control of catecholamine storage and release. *Comp Biochem Physiol* 120C:1–27. doi: 10.1016/S0742-8413(98)00037-1
- Roberto M. C., Santana N. F. e Thomaz S. M. (2009) Limnology in the Upper Paraná River floodplain: large-scale spatial and temporal patterns, and the influence of reservoirs. *Braz J Biol*, 69, 717-725. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842009000300025>
- Ruane NM, Wendelaar Bonga SE, Balm PHM (1999) Differences between rainbow trout and brown trout in the regulation of the pituitary–interrenal axis and physiological performance during Confinement. *Gene Comp Endoc* 115: 210–219. doi:10.1006/gcen.1999.7292.
- Sanches FHC, Miyai CA, Pinho-Neto CF, Barreto RE (2015) Stress responses to chemical alarm cues in Nile tilapia. *Physiol Behav* 149: 8-13. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.05.010>
- Sink TD, Lochmann RT, Fecteau KA (2008) Validation, use, and disadvantages of enzyme-linked immunosorbent assay kits for detection of cortisol in channel catfish, largemouth bass, red pacu, and golden shiners. *Fish Physiol Biochem* 34: 95-101. doi 10.1007/s10695-007-9150-9
- Statsoft, Inc. statistica (data analysis software system). Version 7.1 for Windows. Tulsa: Statsoft. Inc., 2005.
- Thompson RM, Beardall J, Beringer J, Grace M, Sardina P (2013) Means and extremes: building variability into community-level climate change experiments. *Ecol Lett* 16: 799-806. doi: 10.1111/ele.12095
- Trenberth KE, Jones PD, Ambenje P, Bojariu R, Easterling D, Klein Tank A (2007) Climate change 2007: the physical science basis. In. Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt KB, Tignor M, Miller HL (Eds) Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge University Press, Cambridge 235-336 pp.
- Trinder P (1979) Determination of Glucose in Blood Using Glucose Oxidase with an Alternative Oxygen Acceptor. *Ann Clin Biochem J* 6 (1): 24-27 doi: 10.1177/000456326900600108

Werner EE, Peacor SD (2006) Lethal and nonlethal predator effects on an herbivore guild mediated by system productivity. *Ecology* 87: 347-361. doi: <http://dx.doi.org/10.1890/05-0091>

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho evidenciou-se a importância de considerar os efeitos de diferentes estratégias de caça de piscívoros em cadeias alimentares, as quais podem direcionar a predação de consumidores intermediários (pequenos peixes) sobre diferentes populações de invertebrados aquáticos, de acordo com o piscívoro em questão. Por outro lado, mesmo que consumidores intermediários desempenhem diferentes comportamentos perante diferentes estratégias de caça de piscívoros, suas respostas fisiológicas (níveis plasmáticos de cortisol e glicose) são similares. Este resultado demonstra um possível mecanismo de adaptação, permitindo o máximo do estado normal ou homeostático da presa perante ameaças de predação. É importante considerar que *H. aff malabaricus* e *A. crassipinnis* ocorrem juntos em lagoas na planície alagável do alto rio Paraná, dessa forma torna-se de fundamental importância que a interação entre ambos predadores seja considerada em investigações futuras, assim como, seus efeitos sobre comunidades aquáticas em ambientes naturais.